

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 竹 内 雄 毅

主論文 1 編

In vivo effects of short- and long-term MAPK pathway inhibition against neuroblastoma.

Journal of Pediatric Surgery 53;2454-2459, 2018

審 査 結 果 の 要 旨

神経芽腫は、小児頭蓋外固形腫瘍のなかではもっとも頻度の高い腫瘍である。高リスク神経芽腫は未だに予後不良であり、再発や難治性の神経芽腫に対する新規治療の開発が望まれるところである。MAPK 経路は、細胞増殖に関わる重要なシグナル伝達経路であり、RAS および RAF などの遺伝子変異が種々の癌で報告されている。再発神経芽腫の約 80%がこの MAPK 経路活性のある遺伝子変異を示すことが近年報告されており、再発例を含む難治性神経芽腫に対する MAPK 経路を標的とした MEK 阻害剤の有効性が期待されている。我々の先行研究では、神経芽腫に対する *in vitro* における MEK 阻害剤の効果について検討し、免疫細胞化学法でリン酸化 ERK(pERK)陽性の神経芽腫に対して、MEK 阻害剤が抗腫瘍効果を示すことを報告している。

申請者は、MEK 阻害剤（トラメチニブ、CH5126766）の神経芽腫に対する *in vivo* での効果を検討するため、神経芽腫 xenograft を用いた MEK 阻害剤短期投与試験・長期投与試験を行なった。さらに pERK 免疫組織化学の MEK 阻害剤感受性を予測するバイオマーカーとしての有用性を検証するため、pERK 免疫組織化学と薬剤感受性の相関を解析した。

方法は、神経芽腫細胞株 (IMR5, CHP-212, SK-N-AS) を 4 週齢メスのヌードマウス (KSN/Slc) に皮下移植し、薬剤投与群、非投与群に振り分け、短期（2 週）および長期（8 週）投与試験を行った。効果判定は、腫瘍容積の測定と腫瘍組織に対する病理組織学的解析（HE 染色および pERK, Ki67 免疫組織化学）を行った。

短期投与試験では、MEK 阻害剤は CHP-212 と SK-N-AS に対して抗腫瘍効果を示した。また治療前の腫瘍組織に対する pERK 免疫組織化学では、CHP-212 と SK-N-AS のみ pERK 陽性であった。さらに治療後の pERK および Ki67 陽性細胞率は control に比して有意に低かった。 ($p<0.001$)。

長期投与試験では、MEK 阻害剤は 5 週までは SK-N-AS に対して腫瘍増大を抑制していたが、6 週以降に腫瘍の再増大を認め、神経芽腫が薬剤耐性を獲得したことを確認した。また 8 週治療後の腫瘍組織に対する pERK および Ki67 陽性細胞率がともに再上昇を示したことから、MEK 阻害剤への耐性獲得が MAPK 経路の再活性化と関連していると考えられた。さらに、6 週投与後の HE 染色でのみ、腫瘍の一部が神経節細胞様に分化しており、再増大した 8 週投与後には未分化な神経芽腫細胞のみが観察された。この分化した神経芽腫細胞は pERK, Ki67 とともに陰性であり腫瘍増殖能が消失していると考えられた。神経芽腫は腫瘍組織の分化度が予後と密接に関連しており、MEK 阻害剤の分化誘導効果を増強することで、更なる予後の改善が期待できると考えられる。

以上が本論文の要旨であるが、MEK 阻害剤は、MAPK 経路活性を示す神経芽腫に対して *in vivo* においても抗腫瘍効果を示し、また pERK 免疫組織化学は、MEK 阻害剤感受性神経芽腫患者を適切に選別するバイオマーカーとしての有用性が期待できることを明らかにした点で、医学上価値のある研究と認める。

平成 31 年 1 月 17 日

審査委員 教授 井 上 匡 美 ㊦

審査委員 教授 八 木 田 和 弘 ㊦

審査委員 教授 松 田 修 ㊦